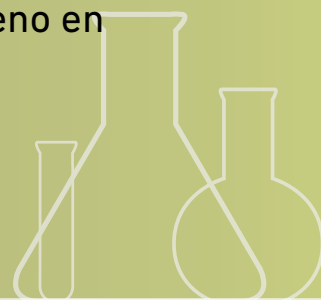


# 2009UY

Determinación de Demanda Química de Oxígeno en efluentes domésticos e industriales líquidos, aguas contaminadas y naturales.



Método espectrofotométrico, reflujo cerrado.

---

**Elaborado** - F. Lauber

---

**Modificado** - R. Gálvez

---

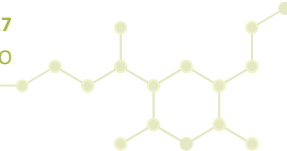
**Revisado** - S. Azambuya, Jefe Sección Físicoquímico

---

**Aprobado** - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental

---





## 1. APLICACIÓN

- 1.1. Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de demanda química de oxígeno en efluentes domésticos e industriales líquidos, aguas contaminadas y naturales en el rango entre 29 mg O<sub>2</sub>/L y 1000 mg O<sub>2</sub>/L. El límite de detección es de 9,7 mg O<sub>2</sub>/L.

## 2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.5. Instructivo de uso del digestor (INE 48)
- 2.6. Instructivo de uso de balanzas (INE 16A, INE 94)
- 2.7. Instructivo de uso espectrofotómetro (INE 38)
- 2.8. Ruta de análisis (RFQ 07)
- 2.9. Registro de preparación de soluciones control (RPS 01)
- 2.10. Registro de preparación de reactivos y estándares (RPR 01)

## 3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. La Demanda Química de Oxígeno (DQO) es la medida de oxígeno equivalente a la materia orgánica que es susceptible a ser oxidada por un oxidante químico específico fuerte, en condiciones específicas de temperatura y tiempo. La cantidad de oxidante consumido se expresa en términos de su equivalencia de oxígeno.
- 3.2. Los componentes tanto orgánicos como inorgánicos de la muestra son pasibles de oxidación, pero en la mayoría de los casos predominan los componentes orgánicos y son de mayor interés.
- 3.3. La demanda química de oxígeno es un ensayo definido, el alcance en cuanto a la oxidación de la muestra puede ser afectada por el tiempo de digestión, la fuerza del reactivo y la concentración de DQO que posee la muestra.
- 3.4. La muestra se oxida con una cantidad conocida de dicromato de potasio en exceso, en medio ácido y en presencia de catalizadores a 150 °C ± 2 °C, en un sistema cerrado. En el caso de la determinación de DQO a concentraciones mayores a 100 mg O<sub>2</sub>/L, el cromato resultante de la reducción del dicromato es determinado espectrofotométricamente a 600 nm. Para concentraciones menores a 100 mg O<sub>2</sub>/L, se determina espectrofotométricamente la disminución del dicromato inicial a 420 nm.

## 4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Se requieren túnica, guantes y lentes de seguridad.
- 4.2. Trabajar en campana de extracción de vapores.
- 4.3. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial para la salud, la exposición a los mismos debe ser minimizada.
- 4.4. Tener especial cuidado con la solución de dicromato de potasio; dicha solución contiene además del dicromato que es tóxico, una sal de mercurio que es extremadamente tóxica por contacto con la piel y los ojos. La solución de ácido sulfúrico también puede causar quemaduras por contacto con los ojos y la piel.
- 4.5. Disposición final de residuos: se procede de acuerdo al Manual de Gestión de Calidad, procedimiento PR 15, “Disposición Final de Residuos Generados”.

## 5. INTERFERENCIAS

- 5.1. La oxidación de la mayoría de los compuestos orgánicos es de entre el 95 y 100 % del valor teórico. La piridina y compuestos relacionados resisten la oxidación y los compuestos orgánicos volátiles reaccionarán en proporción a su contacto con el oxidante. Los compuestos de cadena alifática lineal son oxidados más efectivamente en presencia de un catalizador de sulfato de plata.

- 5.2. La interferencia más común es el ion cloruro. El cloruro reacciona con el ion plata para precipitar cloruro de plata, y esto inhibe la acción catalítica de la plata. Bromuro, yoduro y cualquier otro reactivo que inactive el ion plata puede interferir de forma similar.
- 5.3. Los iones inorgánicos reducidos tales como: hierro ferroso, sulfuro, magnesio, manganeso, etc. son oxidados cuantitativamente bajo las condiciones de análisis. Para muestras conteniendo niveles significativos de estos iones, suponiendo que se oxidan estequiométricamente, y conociendo su concentración inicial se obtiene el valor de la DQO por medio de correcciones.
- 5.4. Los compuestos alifáticos volátiles de cadena larga no son oxidados, porque al volatilizarse no toman contacto con la solución oxidante.
- 5.5. El presente procedimiento no es apto para analizar muestras que contengan cloruro en concentración superior a 2000 mg Cl/L, debido a la precipitación de cloruros que ocurre con los iones plata y mercurio contenidos en las soluciones de digestión y de ácido sulfúrico.
- 5.6. Si la muestra es preservada con ácido sulfúrico concentrado y es utilizada para relacionarla con DBO o TOC, verificar que todas las determinaciones sean realizadas en las mismas condiciones.

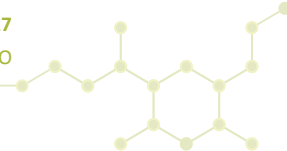
## 6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. La preparación de los materiales a ser empleados se realiza de acuerdo al Manual procedimiento 16 (PR 16) "Limpieza de materiales", perteneciente al Manual de Gestión de Calidad – Laboratorio Ambiental de DINAMA.
- 6.2. Recolectar la muestra en envases de vidrio o plástico (polietileno o equivalente), un volumen mínimo de 100 mL sin cámara de aire. Refrigerar a temperatura  $\leq 6\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $> 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Analizar dentro de las 24 h de extraída la muestra. En caso de necesitar preservar la muestra, llevar a  $\text{pH} < 2$  con ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) y refrigerar a temperatura  $\leq 6\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $> 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ); teniendo en este caso 7 días para analizar la muestra.

## 7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

- 7.1. Espectrofotómetro con longitud de onda de 600 nm (para rango de DQO alto) y 420 nm (para rango de DQO bajo). Adaptador para celdas de sección circular de 25 mm de diámetro (marca Spectronic modelo 21D o similar)
- 7.2. Digestor: block de aluminio con huecos de 85 mm de profundidad y 27 mm de diámetro circular, para alojar tubos de 25 mm de diámetro, que opere a  $150\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . (Nota: los tubos deben poder ingresar y ser extraídos de los huecos fácilmente)
- 7.3. Tubos de digestión: tubos de borosilicato con tapa de rosca resistente al calor y contratapa de teflón, de 50 mL de capacidad y 25 mm de diámetro externo. Asegurar que los tubos utilizados como celdas de lectura posean buena calidad óptica
- 7.4. Matraces aforados de 1000 mL
- 7.5. Pipetas automáticas de volumen variable (1-10 mL) y punteros correspondientes
- 7.6. Pipetas automáticas de volumen variable (100-1000  $\mu\text{L}$ ) y punteros correspondientes
- 7.7. Vasos de Bohemia o Erlenmeyers
- 7.8. Dispensadores de volumen variable (1-10 mL)
- 7.9. Balanza de resolución 0,01 g (AND HF 2000G o similar)
- 7.10. Balanza de resolución 0,0001 g (Precisa 205 o similar)
- 7.11. Destilador de agua (Barnstead o similar)
- 7.12. Equipo para filtración (para el caso de realizar análisis de DQO filtrada)

**Nota 1:** los materiales para las determinaciones de DQO en el rango de bajas concentraciones (tubos, tapas y tips de pipeta) deben ser utilizados exclusivamente para este fin, dado el alto riesgo de contaminación de los mismos al ser utilizados con muestras con valores de DQO elevados.



## 8. REACTIVOS

- 8.1. **Solución de digestión para curva de altas concentraciones:** Agregar a 500 mL de agua desionizada 10,216 g de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$  Nro. CAS 7778-50-9) previamente secado a 150 °C por 2 horas, 167 mL de ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$  cc Nro. CAS 7664-93-9) y 33,3 g de sulfato mercuríco ( $HgSO_4$  Nro. CAS 7783-35-9). Disolver, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1000 mL. Almacenar en campana. Vida útil de la solución 4 meses.
- 8.2. **Solución de digestión para curvas de bajas concentraciones:** preparar de la misma forma que la solución para curva de altas concentraciones pero agregando 1,022 g de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ).
- 8.3. **Solución de ácido sulfúrico:** Agregar sulfato de plata ( $Ag_2SO_4$  Nro. CAS 10294-26-5) a ácido sulfúrico concentrado en una relación de 5,5 g/kg de  $H_2SO_4$  (si la densidad del  $H_2SO_4$  concentrado es 1,84 g/mL entonces la adición de  $Ag_2SO_4$  es de 25,3 g en 2,5 L de  $H_2SO_4$ ). Agitar por inversión esporádicamente. Esperar 1 o 2 días antes de usar esta solución para permitir la disolución completa del  $Ag_2SO_4$ .
- 8.4. **Solución estándar de ftalato ácido de potasio, 1000 mg  $O_2/L$ :** Secar ftalato ácido de potasio (KHP Nro. CAS 877-24-7) a 110 °C hasta peso constante. Disolver 850,0 mg en agua desionizada y diluir a 1000 mL en matraz aforado. Conservar la solución refrigerada a  $\leq 6$  °C ( $> 0$  °C). Esta solución es estable por cuatro meses. En caso de observar alteración de la solución, descartar.
- 8.5. **Solución estándar de ftalato ácido de potasio (KHP), 200 mg  $O_2/L$ :** Diluir con material aforado 5 veces la solución estándar de 1000 mg  $O_2/L$ . Emplear agua desionizada. Esta solución es estable por tres meses. En caso de observar alteración de la solución, descartar.
- 8.6. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente).
- 8.7. **Solución control:** Ver preparación en el Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINAMA.

*Nota 2: Salvo que se especifique, se debe emplear reactivos para análisis (PA), que son aquellos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice.*

## 9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. La muestra a analizar debe estar homogeneizada, por lo tanto agitar antes de realizar la toma.

## 10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. **Curva de calibración:** Realizar una curva de calibración de por lo menos 4 diluciones del estándar.  
Para curva de altas concentraciones: Colocar en tubos de digestión: 0,5; 1,0; 2,5; 3,5 y 5,0 mL de la solución estándar de KHP de concentración aproximada 1000 mg  $O_2/L$  y completar a un volumen final de 5 mL con agua desionizada. Estas soluciones corresponden a 100, 200, 500, 700 y 1000 mg  $O_2/L$  respectivamente. Hacer un blanco de reactivos, con 5 mL de agua desionizada.  
**Para curva de bajas concentraciones:** Colocar en tubos de digestión: 0,8; 1,2; 1,6; 2,0 y 2,4 mL de la solución estándar de KHP de concentración aproximada 200 mg  $O_2/L$  y completar un volumen final de 5 mL con agua desionizada. Estas soluciones corresponden a 32, 48, 64, 80 y 96 mg  $O_2/L$  respectivamente. Hacer un blanco de reactivos con 5 mL de agua desionizada en un tubo de digestión.  
**Blancos:** Utilizar un blanco si digerir como solución de referencia; y compararlo con el blanco digerido para confirmar la reacción analítica correcta y para determinar el blanco del método (aceptando un 10 % de apartamiento).
- 10.2. Agregar, trabajando en campana de extracción de gases, a cada tubo de digestión 3,0 mL de solución de digestión correspondiente (según se trabaje con altas o bajas concentraciones) y 7,0 mL de solución de ácido sulfúrico.
- 10.3. Tapar bien los tubos de digestión y agitarlos vigorosamente en forma circular, manteniéndolos en posición vertical.
- 10.4. Colocar los tubos en el digestor a 150 °C durante 2 horas.
- 10.5. Enfriar los tubos a temperatura ambiente. Para acelerar el proceso de enfriamiento pueden ser colocados en una gradilla dentro de un baño de agua. Secar los tubos con papel absorbente. La gradilla debe ser adecuada para no deteriorar la calidad del vidrio de los tubos, ya que se usan como celda en el espectrofotómetro. Para curva de altas concentraciones realizar el ajuste de cero del equipo a 600 nm con un tubo conteniendo agua desionizada en el portacelda. Para la curva de bajas concentraciones realizar el mismo procedimiento pero a 420 nm.

- 10.6. Para curva de altas concentraciones: Leer la absorbancia a 600 nm. Para esto, ir girando el tubo y leyendo las absorbancias indicadas en el display del equipo. Registrar el menor valor leído.
- 10.7. Graficar la absorbancia leída en función de la concentración del estándar mg O<sub>2</sub>/L.
- 10.8. Para la curva de bajas concentraciones: Leer la absorbancia a 420 nm de igual forma que para 600 nm
- 10.9. Graficar “(absorbancia del blanco digerido – absorbancia de estándar)” en función de la concentración del estándar.

## 11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

- 11.1. Homogeneizar la muestra. Tomar 5,0 mL de muestra o una alícuota adecuada tal que la concentración de DQO este en el rango lineal, en un tubo de digestión y completar con agua desionizada a 5 mL de volumen final. Si la toma debe ser menor a 2 mL realizar una dilución previa de la muestra y luego tomar 5,0 mL de esta dilución. La digestión de la muestra debe hacerse por duplicado.

*Nota 3: Estimar la dilución para la digestión, en base a resultados de análisis anteriores de la muestra. En caso de no contar con antecedentes para matrices de efluentes industriales, trabajar con curva de altas concentraciones en primera instancia, si el resultado del análisis es menor a 100 mg O<sub>2</sub>/L, realizar la determinación de la muestra con curva de bajas concentraciones. Para el caso de muestras de aguas naturales y no contaminadas, trabajar con curva de bajas.*

- 11.2. Agregar a cada tubo de digestión 3,0 mL de solución de digestión y 7,0 mL de solución de ácido sulfúrico. Tapar bien los tubos de digestión y agitarlos vigorosamente en forma circular, manteniéndolos en posición vertical. Colocar los tubos en el digestor a 150 °C durante 2 horas.

*Nota 4: las muestras, la curva de calibración y la Solución control deben ser digeridas simultáneamente en el mismo equipo.*

*En caso de tener que diluir la muestra se debe realizar una dilución para cada tubo de digestión (independientemente que se considere la misma concentración final de la dilución a realizar o dos concentraciones finales diferentes).*

- 11.3. Si el análisis debiera ser repetido fuera de las 24 h, conservar una alícuota de la muestra en un tubo sin cámara de aire almacenada a pH < 2.

## 12. ANÁLISIS DE DATOS

- 12.1. La curva de calibración para altas concentraciones está representada por la siguiente curva lineal:

$$\text{Abs estándar} = a \times (\text{mg O}_2/\text{L}) + b$$

donde:

a y b: corresponden a la pendiente y la ordenada en el origen de la curva de calibración, respectivamente.

La concentración de DQO se calcula según la siguiente ecuación:

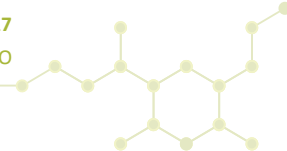
$$\text{DQO (mgO}_2/\text{L)} = \frac{(\text{Absmuestra} - b) \times \text{FD} \times 5}{a \times T}$$

donde:

FD: corresponde al factor de dilución de la muestra

T: corresponde a mL de muestra tomada para el ensayo

Los resultados se expresan en mg O<sub>2</sub>/L.



12.2. La curva de calibración para bajas concentraciones está representada por la siguiente curva lineal:

$$\text{Abs bco} - \text{Abs estándar} = a \times (\text{mg O}_2/\text{L}) + b$$

donde:

a y b: corresponden a la pendiente y la ordenada en el origen de la curva de calibración.

La concentración de DQO se calcula según la siguiente ecuación:

$$\text{DQO (mgO}_2/\text{L)} = \frac{(\text{Abs bco} - \text{Absmuestra} - b)}{a}$$

### 13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

13.1. **Control de la exactitud:** Tomar 2,5 mL de solución de control para la curva comprendida entre 0 y 900 mg O<sub>2</sub>/L. Se manipula la solución control y se analiza cómo se describe en el punto 11 'Análisis de la muestra'. Se compara el resultado con su valor de referencia y límites de aceptación. Cuando el resultado no se encuentre dentro del rango de los límites aceptados, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis. Para el análisis en curva de bajas concentraciones (0 a 100 mg O<sub>2</sub>/L), Se emplea una solución control diluida 10 veces. Con cada serie de digestión realizar un control de exactitud.

13.2. **Control de la precisión:** Se debe realizar el análisis por duplicado de una de cada tres muestras. Verificar que la dispersión de los duplicados esté dentro de los límites de control correspondientes.

13.3. **Porcentaje de recuperación:**

**Fortificación:** El porcentaje de recuperación de la adición de una alícuota de solución estándar se realiza en todas las muestras de efluentes industriales que se analicen.

**Muestras sin dilución (DQO < 1000 mg O<sub>2</sub>/L);** se agrega como máximo 4,0 mL de muestra + 1mL de estándar de concentración 1000 mg/L (preparada al igual que la del estándar pero de preferencia a partir de otro lote de reactivos). La toma a realizar para la medición de muestra fortificada debe ser la misma que corresponde al análisis de muestra sin fortificar.

**Muestras con dilución (DQO > 1000 mg O<sub>2</sub>/L);** se agregan 4,0 mL de la dilución de la muestra + 1 mL de estándar de concentración aproximada a 1000 mg/L.

Este control se realiza para tener registro de posibles interferencias y homogeneidad de las matrices.

La fortificación debe estar dentro del rango de control 80 – 120 %, de lo contrario se debe repetir el análisis de la muestra con mayor dilución. Registrar en el histórico de fortificaciones.

*Nota 5: para aguas naturales no se realizan fortificaciones al momento de la edición del presente documento.*

### 14. BIBLIOGRAFÍA

14.1. American Public Health Association (APHA) (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd edition. APHA, AWWA, WEF, Washington DC. Métodos 5220 A Chemical oxygen demand (COD) Introduction y 5220 D Closed reflux, colorimetric method pp. 5-16 a 5-17 y 5-20 a 5-21.